Eine biologische Nachweismethode des Morphins

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i. Br.

von

Otto Herrmann

aus München

Mit 1 Tafel

Verlagsbuchhandlung von Julius Springer in Berlin
1912

Referent: Prof. Dr. Straub, Freiburg i. Br.

(Aus dem pharmakologischen Institut
der Universität Freiburg i. Br.)

Zum Nachweis von Pflanzengiften, namentlich in forensischen Fällen, können chemische und biologische Methoden herangezogen werden. Der chemische Nachweis, der in erster Linie zu versuchen ist, erfordert, um exakte Resultate zu liefern, eine möglichste Reindarstellung der betreffenden Substanz, auch muß davon ein bestimmtes, keineswegs geringes Minimum vorhanden sein.

In den Fällen aber, die den forensischen Chemiker beschäftigen, handelt es sich oft nur um Spuren des Giftes, die mit großen Mengen anderer Substanzen vermengt sind. Eine Reindarstellung ist dabei häufig ausgeschlossen. In diesem Falle werden aber die chemischen Proben, die ja meist auf rasch veränderlichen Farbenreaktionen beruhen, unsicher oder versagen ganz.

Dazu kommt, daß gewisse bei Leichenfäulnis sich bildende Alkaloide (Ptomaine) ähnliche Reaktionen aufweisen und so Verwechslungen herbeiführen können.

Bei biologischen Proben ist dagegen eine weitgehende Reindarstellung der Substanz in der Regel nicht erforderlich, auch genügen viel geringere Mengen als zum chemischen Nachweis, es kann mit einem Minimum der Substanz ein Maximum der Wirkung erzielt werden. Ferner bleibt bei zerstörenden Einflüssen die biologische Wirksamkeit eines Giftes viel länger erhalten als die chemische, so daß die biologische Probe noch positiv ausfällt, wenn andere bereits versagen.

Freilich muß bei biologischen Methoden immer mit Ungenauigkeiten und Fehlschlägen gerechnet werden. Ein exakter

Beweis ist daher mittels der biologischen Methode allein nur in den seltensten Fällen möglich. Dagegen kann sie zur Entscheidung anamnestischer und chemischer Wahrscheinlichkeiten von Wert sein und eine Beweiskette schließen.

Typische biologische Proben auf Pflanzengifte sind bereits in größerer Anzahl vorhanden[1]). Beim Morphin, das forensisch eine gewisse Bedeutung besitzt und zu den chemisch am schwersten nachweisbaren Alkaloiden gehört, war man bisher auf chemische Methoden angewiesen, die aber aus den angeführten Gründen nicht immer genaue Resultate liefern konnten. Eine sichere biologische Reaktion auf Morphin war nicht bekannt. Von den gewöhnlichen Versuchstieren zeigt der Frosch keine typischen Erscheinungen, die Katze solche nur bei Dosen, die forensisch nur selten zu Gebote stehen.

Eine neue Nachweismethode des Morphins auf biologischem Wege gründet sich auf Beobachtungen an Mäusen, die Prof. W. Straub gelegentlich machte, und deren experimentelle Ausarbeitung mir übertragen wurde. Injiziert man einer weißen Maus eine Lösung von salzsaurem Morphin unter die Rückenhaut, so zeigt sich regelmäßig nach Ablauf einiger Minuten eine Reihe von Erscheinungen. Der Rücken nimmt eine lordotische Krümmung an, es treten leichte spastische Paresen in den Hinterbeinen auf, so daß die Beine in stärkerer Streckstellung als gewöhnlich gehalten werden und der Gang des Tieres erschwert erscheint, der Schwanz beginnt sich in S-förmiger Krümmung aufzurichten, bis er sich schließlich über den Rücken des Tieres legt, so daß sich die Spitze über den Ohren befindet.

Das ganze Verhalten der Maus macht den Eindruck einer gesteigerten Unruhe und Reflexerregbarkeit, so daß sie auf leise Geräusche, besonders auf den akustischen Reiz hoher Klänge erschreckt in die Höhe springt.

Am auffallendsten und regelmäßigsten zeigt sich die Stellung des Schwanzes[2]). Es handelt sich dabei offenbar um

---

[1]) H. Führer, Nachweis und Bestimmung von Giften auf biolog. Wege. 1911.

[2]) Vgl. eine ähnliche Beobachtung an Ratten bei Rübsamen Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmkol. 59, 234.

eine Art katatonischen Zustand, da er durch Muskelbewegung des Tieres, Herumlaufen usw. verstärkt wird. Es empfiehlt sich, die Tiere unter Glasglocken auf Holzteller zu setzen und durch Anklopfen mit einem Glasstab aufzuschrecken.

Die geschilderte Stellung läßt sich minuten- bis stundenlang beobachten. Sie bleibt nicht immer maximal bestehen, sondern tritt von Zeit zu Zeit verstärkt auf, namentlich auf leichte äußere Reize.

Die Applikation der Morphinlösung geschieht am besten durch Injektion unter die Rückenhaut bei Mäusen von 16 bis 20 g Gewicht. Einspritzung unter die Bauch- und Schenkelhaut ergab weniger genaue Resultate. Kleine Mäuse von etwa 5 g lieferten unsichere Ergebnisse, während sie zum Nachweis kleinster Strychninmengen bekanntlich besonders geeignet sind.

Wenn nun diese Reaktion für Morphin als charakteristisch gelten soll, ist der Nachweis erforderlich, daß sie stets bei Morphin in den verschiedensten Dosen auftritt, dagegen bei anderen Substanzen nicht oder nur in deutlich verschiedener Weise, d. h. daß sie spezifisch ist.

Zunächst wäre daran zu denken, daß die Erscheinungen allein durch den Reiz der injizierten Flüssigkeit hervorgerufen würden. Injektionen von Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung verlaufen aber vollständig negativ. Dagegen ließ sich nach Injektion einer schwachen Weinsäurelösung (die bekanntlich im forensischen Morphinnachweis verwendet wird) eine kurzdauernde Reaktion beobachten. Sie trat nicht auf, nachdem die Weinsäure neutralisiert worden war. Es müssen also alle Lösungen neutral oder schwach alkalisch injiziert werden.

Um die Wirkung des Morphins zu prüfen, wurde salzsaures Morphin in wässeriger Lösung injiziert und der Eintritt und Verlauf der Reaktion beobachtet.

In beifolgender Tabelle I, die Durchschnittswerte aus mehreren Beobachtungen zeigt und zugleich für die folgenden Beobachtungen und Versuche als Grundlage dient, sind Größe und Wirkung der verschiedenen Morphindosen mitgeteilt. Als Maximum ist dabei die Zeit angegeben, während der die Erscheinungen, namentlich die Schwanzstellung, sich dauernd im Maximum zeigten oder auf geringen Reiz sofort wiederkehrten. Natürlich sind alle Zeitangaben nur Näherungswerte, da die Reaktion allmählich abklingt.

Tabelle I.

Salzsaures Morphin.

Lösung	Gehalt an Morphin mg	Beginn der Reaktion Min.	Beginn des Maximums Min.	Dauer des Maximums Std.	Dauer der Reaktion Std.
1,5 ccm 1%	15	4	5	—	—
1,0 „ 1%	10	3	4	—	—
0,5 „ 1%	5	2	5	$4^1/_2$	über 20
0,25 „ 1%	2,5	2—3	6	$4^1/_2$	„ 7
0,25 „ 0,5%	1,25	6	8	4	„ 6
0,1 „ 1%	1	5	7	$3^1/_2$	„ 5
0,25 „ 0,25%	0,625	7	9	4	5—6
0,5 „ 0,1%	0,5	10	12	3	4
0,25 „ 0,125%	0,3	6	11	$2^1/_2$	4
0,2 „ 0,1%	0,2	4	10	$2^1/_2$	$3^1/_2$
0,25 „ 0,0625%	0,16	5	15	$1^1/_2$	4
0,1 „ 0,1%	0,1	6	12	2	4
0,25 „ 0,03%	0,08	8	12	2	$3^1/_2$
0,5 „ 0,01%	0,05	7	13	2	3
0,25 „ 0,016%	0,04	4	10	$1^1/_2$	2
0,2 „ 0,01%	0,02	13	20	1	$1^1/_2$
0,1 „ 0,01%	0,01	12	25	30—45 Min.	1—2
0,1 „ 0,005%	0,005	15	—	—	45 Min.

Die Beobachtungen erstrecken sich auf Dosen von 15 mg bis herab zu 0,005 mg. Bei tödlichen Dosen dauerte die maximale Reaktion nur kurze Zeit, d. h. bis zum Auftreten der Lähmungen, bei 0,005 mg blieb eine maximale Reaktion aus. 0,01 mg kann als untere Grenze für maximale Reaktion betrachtet werden.

Der Beginn der Reaktion erfolgt nach 2 bis 15 Min. Im allgemeinen scheint die Reaktion nach größeren Dosen eher aufzutreten als nach geringeren. Ein bestimmter Zusammenhang besteht aber nicht. Ebensowenig läßt sich ein solcher finden zwischen der injizierten Menge und der Frist bis zum Eintritt des Maximums.

Dagegen besteht offenbar eine direkte Beziehung zwischen der Dauer der Reaktion und der injizierten Menge Morphin. Die Reaktion dauert bei 5 mg etwa 20 Stunden und sinkt ziemlich gleichmäßig mit der Dosis auf 45 Min. bei 0,005 mg.

Das gleiche läßt sich konstatieren bei der Dauer ihres Maximums, die bei 5 mg $4^1/_2$ Stunden beträgt und von da auf 30 bis 45 Minuten bei 0,01 mg sinkt, während bei 0,005 kein Maximum mehr auftritt.

Da wiederholte Vergleichsversuche die nämliche Erscheinung zeigten und auch ähnliche Werte ergaben, kann aus der Dauer

der Reaktion und ihres Maximums annähernd auf die Menge des injizierten Morphins geschlossen werden.

Diese quantitative Bestimmung läßt sich noch genauer gestalten durch Berücksichtigung des Grenzwertes von 0,01 mg. Tritt bei wiederholter Verdünnung der Lösung schließlich noch eine kurze maximale Reaktion auf, während die folgende Verdünnung keine mehr erzielt, so wird die erstere einem Gehalt von ungefähr 0,01 mg entsprechen. Auf diese Weise gelang es, den Gehalt unbekannter Morphinlösungen annähernd richtig zu bestimmen.

Ausnahmen kommen natürlich vor, und man wird sich nie mit nur einem Versuch begnügen können. Versuche, die mit Mäusen einer anderen Aufzucht vorgenommen wurden, ergaben als Grenzwert regelmäßig 0,02 mg. Man wird daher am besten erst über den Grenzwert sich vergewissern und zu Vergleichsversuchen nur Tiere derselben Aufzucht benützen.

Es war ferner von Interesse festzustellen, ob bei mehrmals wiederholter Injektion der gleichen Morphinmenge eine Angewöhnung an Morphin und damit eine Abnahme der Reaktion eintreten würde. Dies war nicht der Fall. Eine an mehreren Tieren täglich ausgeführte Injektion der gleichen Menge ergab im Verlauf eines Monats fast immer die gleichen Resultate.

Nachdem auf diese Weise die Reaktion für Morphin festgestellt war, handelte es sich darum, die Wirkung anderer, vor allem ähnlich wirkender Substanzen zu beobachten und Unterschiede festzustellen. In Betracht kamen vor allem die andern natürlichen Opiumalkaloide und die technischen Substitutionsprodukte des Morphins in Gestalt ihrer leicht löslichen neutralen Salze.

Es ergaben sich folgende Resultate:

Tabelle II.

Salzsaures Papaverin.

Lösung	Gehalt an Papaverin mg	Beginn der Reaktion Min.	Beginn des Maximums Min.	Dauer des Maximums Min.	Dauer der Reaktion Std.
0,2 ccm 0,1%	0,2	6	12	30	ca. $1^1/_2$
0,1 „ 0,1%	0,1	10	15	15	„ 1
0,1 „ 0,05%	0,05	—	—	—	—

Dosen von 0,1 mg hatten eine etwa einstündige Reaktion zur Folge. Geringere Gaben waren ohne Wirkung.

Salzsaures Narkotin hatte bei 5 mg nur einmal eine einstündige Wirkung; die gleiche Dosis hatte sonst keinen Erfolg, ebensowenig 1 und 10 mg.

Ganz anders gestalteten sich die Ergebnisse, wenn Narkotin kombiniert mit Morphin gegeben wurde in Gestalt des mekonsauren Morphin-Narkotins.

Tabelle III.
Mekonsaures Morphin-Narkotin.

Lösung	Gehalt an Morphin mg	Beginn der Reaktion Min.	Beginn des Maximums Min.	Dauer des Maximums Std.	Dauer der Reaktion Std.
0,5 ccm 0,2%	1	9	12	3	5
0,2 „ 0,1%	0,2	7	10	2	4
0,1 „ 0,1%	0,1	7	23	2	4
0,5 „ 0,01%	0,05	10	15	1	$3^1/_2$
0,1 „ 0,01%	0,01	10	13	1	3
0,5 „ 0,001%	0,005	14	19	ca. 20 Min.	2
0,25 „ 0,001%	0,0025	21	25	„ 20 „	2
0,1 „ 0,001%	0,001	—	—	—	—

Hier ist die Grenze, bei der noch maximale Reaktion auftritt, 0,0025 mg, d. h. der 4. Teil des Grenzwertes von Morphin. Dosen zwischen 0,0025 mg und 0,05 mg ergaben eine Reaktion, die der der $1^1/_2$ bis 2fachen Gabe reinen Morphins entsprach. Diese Tatsache stimmt mit Beobachtungen von Prof. Straub überein, wonach die Kombination Morphin-Narkotin wirksamer ist als jede der beiden Komponenten allein.

Salzsaures Narcein erzielte in Dosen von 0,25 und 0,125 mg eine kurze, nur wenige Minuten dauernde Reaktion: 0,5 mg blieb ohne Wirkung.

Salzsaures Thebain ergab bei 1 mg eine Reaktion von 1 Stunde, 0,5 war wirkungslos.

Tabelle IV.
Phosphorsaures Codein (Methylmorphin).

Lösung	Gehalt an Codein mg	Beginn der Reaktion Min.	Beginn des Maximums Min.	Dauer des Maximums Std.	Dauer der Reaktion Std.
0,2 ccm 1%	2	12	15	1	3
0,1 „ 1%	1	10	13	1	3
0,5 „ 0,1%	0,5	10	12	5 Min.	2
0,2 „ 0,1%	0,2	10	20	ca. 30 „	2
0,1 „ 0,1%	0,1	29	32	„ 10 „	1
0,5 „ 0,01%	0,05	10	—	—	45 Min.

Codeïn erzielt mit derselben Regelmäßigkeit die gleiche Reaktion wie Morphin, aber erst in der 10fachen Dosis.

Tabelle V.

Salzsaures Dionin (Äthylmorphin).

Lösung	Gehalt an Dionin mg	Beginn der Reaktion Min.	Beginn des Maximums Min.	Dauer des Maximums Min.	Dauer der Reaktion Std.
0,1 ccm 1%	1	9	11	ca. 10	2
0,2 „ 1%	2	6	—	—	1½

Dosen von 0,5 und 0,1 mg blieben ohne Wirkung.

Tabelle VI.

Salzsaures Heroin (Diacetylmorphin).

Lösung	Gehalt an Heroin mg	Beginn der Reaktion Min.	Beginn des Maximums Min.	Dauer des Maximums Std.	Dauer der Reaktion Std.
0,2 ccm 1%	2	4	4	4	über 10
0,1 „ 1%	1	1	7	2	ca. 4
0,5 „ 0,1%	0,5	2	4	1½	„ 4
0,1 „ 0,1%	0,1	1	3	1	„ 4
0,5 „ 0,01%	0,05	2	5	45 Min.	„ 2
0,2 „ 0,01%	0,02	3	9	15 „	1½
0,1 „ 0,01%	0,01	8	14	ca. 20 „	1
0,5 „ 0,001%	0,005	4	8	„ 30 „	über 1

Die Wirkung ist im allgemeinen der des Morphins gleich. Die Grenze liegt etwas tiefer, indem 0,005 mg maximale Reaktion erzielt.

Tabelle VII.

Salzsaures Apomorphin.

Lösung	Gehalt an Apomorphin mg	Beginn der Reaktion Min.	Beginn des Maximums Min.	Dauer des Maximums Min.	Dauer der Reaktion Std.
0,2 ccm 1%	2	Exitus			
0,1 „ 1%	1	5	10	ca. 20	1
0,5 „ 0,1%	0,5	4	2	„ 15	¾
0,2 „ 0,1%	0,2	3	4		1½
0,1 „ 0,1%	0,1	4	—	—	1½

Eine Reaktion läßt sich nur erzielen zwischen 1 mg und 0,1 mg. Ihre Dauer entspricht etwa der von 0,01 bis 0,02 mg Morphin.

Von anderen Alkaloiden, bei denen ähnliche Motilitätsstörungen zu erwarten waren, wurden zum Zweck einer Differentialdiagnose untersucht: Nicotin, Strychnin und Atropin.

Tabelle VIII.

Salzsaures Nicotin.

Lösung	Gehalt an Nicotin mg	Beginn der Reaktion Min.	Beginn des Maximums Min.	Dauer des Maximums Min.	Dauer der Reaktion Std.
1,0 ccm 1 ‰	1,0	17	30	5	2
0,5 „ 1 ‰	0,5	4	9	10	2
0,2 „ 1 ‰	0,2	26	36	20	1
0,1 „ 1 ‰	0,1	15	17	10	½

Diese Substanz wurde untersucht, weil bekanntlich Nicotin an Fröschen katatonische Erscheinungen macht. Die Reaktion war etwa 50 mal so schwach als die des Morphins. Dabei zeigte sich ein anderes Vergiftungsbild. Die Krümmung des Schwanzes trat zwar ebenso auf, aber zugleich mit einer vollständigen Lähmung der Hinterbeine, so daß die Tiere sich nicht bewegen konnten.

Salpetersaures Strychnin verursachte noch in Dosen von 0,03 mg tödlichen Tetanus. Bei kleineren Dosen ließ sich keine dem Morphin ähnliche Reaktion beobachten.

Schwefelsaures Atropin hatte gar keine Wirkung.

Von diesen drei letzten Alkaloiden kommt differentialdiagnostisch allein Nicotin in Frage. Es läßt sich aber an der Größe der Dosis erkennen, das Vergiftungsbild ist ein anderes, auch steht noch die biologische Reaktion am Frosch zur Verfügung[1]).

Von den übrigen können Papaverin, Narkotin, Narcein, Thebain und Dionin ebenfalls ausgeschieden werden, denn die Reaktion tritt bei ihnen ganz unregelmäßig und dann nur bei großen Dosen auf, so daß eine Verwechslung mit Morphin nicht zu erwarten ist.

Eine regelmäßige Reaktion, deren Dauer also wie bei Morphin mit der Dosis abnimmt, zeigen Codein, Apomorphin und Heroin. Bei den beiden ersteren entsprach sie der des 10. Teiles Morphin, dementsprechend war 0,1 mg die Grenze.

[1]) H. Fühner, a. a. O. S. 48.

Heroin ist unter den aufgezählten Substanzen die einzige, die die gleiche oder noch stärkere Wirkung wie Morphin besitzt. Wo Heroin anamnestisch ausgeschlossen werden kann, und das wird häufig der Fall sein, kann die Reaktion als besonders charakteristisch für Morphin angesehen werden.

Immerhin möchte ich es nicht ausschließen, daß bei Prüfung weiterer Alkaloide sich ähnliche Wirkungen an der weißen Maus werden finden lassen.

Bei den bisherigen Versuchen mit Morphin wurden stets Lösungen des reinen salzsauren Salzes verwendet, einer Form, bei der natürlich auch der chemische Nachweis, besonders die Farbreaktion, gelingen würde. Von einer praktischen Bedeutung der Reaktion konnte aber erst gesprochen werden, wenn mit ihrer Hilfe sich das Morphin in Lösungen nachweisen ließ, in denen es nicht rein, sondern mit anderen, vor allem pflanzlichen und tierischen Substanzen vorhanden war.

Daraufhin wurden die im folgenden mitzuteilenden Versuche angestellt.

Zum ersten Versuch diente eine wässerige Lösung des offizinellen Opiumextraktes. Sie ergab folgende Resultate:

Tabelle IX.
Extr. Opii.

Menge ccm	Verdünnung	Extr. Op.	Angebl. Morphin-Gehalt mg	Beginn der Reaktion Min.	Beginn des Max. Min.	Dauer des Max. Std.	Dauer der Reaktion Std.
0,1	1:20	0,005 g	1,0	6	10	über 6	über 7
0,1	„	0,005 „	1,0	6	15	„ 4	ca. 6
0,05	„	0,0025 „	0,5	9	15	6	8
0,25	1:200	1,25 mg	0,25	10	18	$3^1/_2$	ca. 5
0,1	„	0,5 „	0,1	12	16	1	4
0,5	1:2000	0,25 „	0,05	9	16	$2^1/_2$	6
0,25	„	0,125 „	0,025	17	29	1	3
0,1	„	0,05 „	0,01	12	18	ca. $^1/_2$	3
0,5	1:20000	0,025 „	0,005	20	—	—	2

Die letzte Reaktion trat bei 0,025 mg Extr. Op. ein, d. h. entsprechend 0,005 mg Morphin. Nach der Reaktion betrug der Morphingehalt 20%, der tatsächlich derjenige des verwendeten offizinellen Opiumextraktes ist.

Ein weiterer Versuch erfolgte mit einer Lösung von Rauchopium (Tschandu) der holländischen Opiumregie in Batavia, dessen Morphingehalt nicht festgestellt war.

Tabelle X.

Tschandu.

Lösung	Trocken-substanz mg	Beginn der Reaktion Min.	Beginn des Max. Min.	Dauer des Max. Std.	Dauer der Reaktion Std.
0,25 ccm 1%	2,0	8	13	4	über 4
0,1 „ 1%	0,8	9	10	über 1	„ 2
0,1 „ 1%	0,8	4	11	1	„ 2
0,05 „ 1%	0,4	13	17	1	1½
0,25 „ 0,1%	0,2	25	35	20 Min.	über 1
0,1 „ 0,1%	0,08	10	—	—	½

Die Menge von 0,2 mg Trockensubstanz, bei der noch maximale Reaktion auftrat, dürfte etwa 0,01 mg Morphin entsprechen.

Schließlich wurde die Methode auch zum Nachweis des Morphins im Rauch des verrauchten Tschandu mit Erfolg verwendet, worüber indessen von anderer Seite ausführlich berichtet werden soll.

Zur Erprobung des frischen Materials auf Morphingehalt diente der Milchsaft verschiedener Mohnarten, der wie bei der Opiumgewinnung in Kleinasien durch Einschneiden und Ritzen der Kapseln und Stengel gewonnen, dann 12 Stunden mit der 100fachen Gewichtsmenge Wasser extrahiert und injiziert wurde.

Bei Papaver orientale trat keine Reaktion auf, nach Injektion von ½ und 1 ccm starben die Tiere bald.

Ein Extrakt mit verdünnter Salzsäure aus den in Reifung begriffenen Samen derselben Gattung hatte keine Wirkung.

Ebenso ergab der Saft von Papaver Rhoeas kein Resultat.

Dagegen lieferte der Saft von Papaver bracteatum im Stadium der Samenreifung folgende Ergebnisse:

Tabelle XI.

Papaver bracteat.

Lösung ccm	Beginn der Reaktion Min.	Beginn des Maximums	Dauer des Maximums Min.	Dauer der Reaktion Std.
0,2	30	—	—	1½
0,1	36	1 Std. 10 Min.	10	1½

Bei 0,4 ccm erfolgte auch hier der Tod unter Krämpfen.

Papaver somniferum ergab zur Zeit der Blüte:

Tabelle XII.

Papaver somnifer. I.

Lösung ccm	Beginn der Reaktion Min.	Beginn des Maximums Min.	Dauer des Maximums Min.	Dauer der Reaktion Std.
0,5	20	45	?	ca. 1
0,5	20	40	30	„ $3^1/_2$
0,5	15	22	15	$1^1/_2$
0,5	16	21	10	1
0,25	30	38	30	$1^1/_2$

Zur Zeit der Samenreifung:

Tabelle XIII.

Papaver somnifer. II.

Lösung ccm	Beginn der Reaktion Min.	Beginn des Maximums Min.	Dauer des Maximums Min.	Dauer der Reaktion Std.
1,0		Exitus		
0,5	7	10	?	1
0,2	15	26	30	$2^1/_2$
0,1	10	15	20	2

Von dieser Mohnsorte dürfte etwa 1 ccm des Extraktes 0,03 bis 0,04 mg Morphin entsprechen[1]).

Von den Mohnsorten sind demnach morphinhaltig die Säfte von Papaver bracteatum und somniferum,

wirksam, aber nicht morphinhaltig, der Saft von Papaver orientale,

völlig unwirksam der Saft von Papaver Rhoeas[2]).

Wenn endlich der Reaktion eine wirkliche Bedeutung für forensische Zwecke zukommen sollte, mußte geprüft werden, ob und wieweit sich Morphin in tierischen Substanzen (Blut, Harn, Organe) auf biologischem Wege nachweisen ließ.

Um zur Injektion geeignete Lösungen zu erhalten, verfuhr ich in folgender Weise:

---

[1]) Vgl. dazu Thoms, Arbeiten a. d. pharmazeut. Inst. d. Univ. Berlin, 1908.

[2]) Vgl. Dragendorff, Die Giftpflanzen, S. 250.

Blut a) unverändert,
wurde in Hirudinlösung aufgefangen und injiziert oder es wurde das durch Stehenlassen oder Zentrifugieren gewonnene Serum dazu benützt;

b) mit Vorreinigung nach Stas-Dragendorff:

Nach etwa 1stündiger Extraktion in der 3 bis 4fachen Menge absoluten Alkohols, der mit Weinsäure angesäuert war, wurde das Extrakt auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft, mit der gleichen Menge Wasser, wie ursprünglich Blut vorhanden war, aufgenommen, die Lösung filtriert, mit Natr. carbon. neutralisiert und in Mengen von $^1/_2$ bis 1 ccm injiziert.

Statt des Blutes kann auch das Serum allein extrahiert werden.

Keinen Erfolg hatte ein anderes Verfahren:

Extraktion des mit NH_3 alkalisch gemachten Serums durch alkoholhaltigen Äther, Verjagen des Extraktionsmittels, Lösung des Rückstandes in saurem Wasser und Injektion der wieder neutralisierten Flüssigkeit.

Eine Extraktion des vom Serum getrennten Cruor lieferte kein Resultat. Dies würde mit der Annahme übereinstimmen, daß das Morphin, wenn überhaupt, sich nur im Serum vorfindet[1]).

Harn wurde zuerst zur Trockne eingedampft, dann mit weinsaurem Alkohol versetzt und wie Blut weiterbehandelt.

Organe (Leber, Gehirn, Magen) wurden in kleine Stücke zerschnitten, im Mörser zu Brei zerrieben, mit 100 bis 200 ccm weinsauren Alkohols versetzt und einige Tage digeriert. Dann folgte dieselbe Behandlung wie bei Blut.

Diese Methode der Morphinausscheidung aus Organen lieferte mir bessere Resultate als das Aufschließen mit angesäuertem Wasser nach Marquis, das ich wiederholt versuchte[2]).

Zunächst setzte ich eine bestimmte Morphinmenge dem frisch dem Tierkörper entnommenen Blut oder Organ zu und suchte festzustellen, wieviel sich davon auf biologischem Wege nachweisen ließ.

---

[1]) Cloëtta, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 50, 459.

[2]) Marquis, Über den Verbleib des Morphins im tierischen Organismus. Diss. Dorpat 1896, S. 17

Blut wurde in Mengen von 5 bis 10 ccm der Carotis eines Kaninchens entnommen, mit etwas Hirudinlösung vermischt und dann Morphin in Dosen von 1 bis 0,1 mg beigefügt. Wurde das Blut nun sofort injiziert, so trat maximale Reaktion noch bei einer Verdünnung ein, die 0,01 mg Morphin entsprach, wenn alles erhalten geblieben war. Es bestanden also die gleichen Verhältnisse wie bei einer reinen Morphinlösung (Tab. I), d. h. es war keine Veränderung des Morphins eingetreten. Dasselbe war der Fall, wenn das Morphin dem Serum zugesetzt wurde.

Wenn dagegen die Mischung längere Zeit (1 bis 10 Std.) im Brutschrank digeriert wurde, so betrug die untere Grenze, bei der noch Reaktion eintrat, im besten Falle 0,025 mg, oft auch 0,05 mg der ursprünglichen Menge, d. h. es mußte von diesen kleinen Dosen $^1/_2$ bis $^3/_4$ zerstört sein und es konnten nur 20 bis 40% wiedergefunden werden.

Dies würde also besagen, daß im Blute eine teilweise Veränderung des Morphins stattfindet, so daß es nicht mehr die charakteristische Wirkung äußert[1]).

Um das Eintreten und den Verlauf dieser Veränderung festzustellen, versetzte ich 5 ccm frischen Blutes mit 1 mg Morphin und injizierte in Abständen von 10 zu 10 Minuten je 1 ccm einem Tiere. Es trat zwar Reaktion ein, doch war eine gleichmäßige Abnahme mit dem zunehmenden Zeitintervall nicht deutlich zu erkennen, was mit der Ungenauigkeit der biologischen Methode zu erklären ist.

Der gleiche Versuch mit defibriniertem, mehrere Tage altem Blute wiederholt, lieferte aber eine Reaktion, die bei allen Tieren etwa doppelt so lange dauerte wie im vorhergehenden Falle. Es scheint also frisches Blut auf Morphin stärker verändernd einzuwirken als altes.

Organen (Leber, Hirn, Magen), die dem noch warmen Tierkörper entnommen und zu Brei zerrieben waren, setzte ich Dosen von 1 bis 0,1 mg Morphin pro Gramm zu, digerierte etwa 1 Stunde im Brutschrank und behandelte sie dann in der oben angegebenen Weise mit weinsaurem Alkohol.

---

[1]) Vgl. den entgegengesetzten Befund bei Cloëtta (Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 50, 460). Dabei wurde aber eine viel größere Dosis (0,1 g Morph. mur.) zu 20 ccm Blut hinzugesetzt.

Eine Reihe von Versuchen ergab die Grenze der Nachweisbarkeit

bei der Leber bei etwa 0,025 bis 0,05 mg,
„ dem Magen „ „ 0,05 mg,
„ „ Gehirn „ „ 0,1 „

Im Gehirn findet also auch bei diesen medizinal kleinen Dosen die stärkste Veränderung des Morphins statt, was ganz mit den Ergebnissen anderer übereinstimmt[1]).

Somit war es möglich, das Morphin in tierischen Substanzen, wenn auch nur zum Teil, wiederzufinden.

Um nun einen Einblick in die Verteilung und das Schicksal des Morphins im lebenden Tiere zu gewinnen, erhielten Kaninchen von 1300 bis 2000 g Gewicht intravenös je 50 mg Morphin (was für Kaninchen noch medizinal ist) und wurden 5 bis 50 Minuten danach getötet und Blut und Organe geprüft.

Tabelle XIV.

Prozent der positiven Reaktionen nach intravenöser Injektion von 25 mg salzs. Morphin.

Zahl der Tiere: 18.

Entnahme nach Min.	Alkohol. Blutextrakt	Serum	Leber	Gehirn	Magen	Harn
5	50	66	50	33	75	—
7	50	40	—	—	—	—
10	35	33	—	—	—	—
15	40	100	50	50	0	—
30	40	50	—	—	—	—
45	25	20	0	0	0	100
50	0	0	50	33	100	—

Zu dieser Tabelle ist folgendes zu bemerken:

Die einzelnen Extraktproben wurden in Parallelbestimmungen an möglichst vielen Tieren geprüft, die jedoch nicht alle gleichmäßig darauf reagierten. Die Tabelle zeigt die Prozentzahl der positiven Reaktionen, die nach Intensität meist Grenzwerte darstellen.

Diese Unterschiede können zum Teil an der verschiedenen Fähigkeit der einzelnen Kaninchen liegen, das Morphin zu zersetzen, müssen aber wohl hauptsächlich bei den Meßtieren

[1]) Cloëtta, a. a. O., findet bei Gehirn 56 bis 66%, bei Leber 70 bis 81% wieder.

(Mäusen) gesucht werden, die aus dem Blute und den vorgereinigten, also immer noch unreinen Extrakten mit ungleicher Ausbeute resorbieren, was natürlich bei den angewandten Minimummengen maximale Differenzen ergeben muß.

Deshalb wird der Beweiswert der positiven Ergebnisse durch die negativen des Parallelversuchs keineswegs aufgehoben.

Nach Verteilung und Wirkung ist das Resultat dieser Versuche folgendes:

Das Morphin verschwindet im Körper in kürzester Zeit zum größten Teil, von einer einverleibten medizinalen Dosis verbleibt nur ein ganz geringer Prozentsatz als wirksamer Anteil, denn im besten Fall fanden sich schätzungsweise 12 % wieder[1]).

Ähnliche wechselnde Resultate ergaben sich auch in zwei Fällen nach subcutaner Injektion von je 100 mg.

In der gleichen Weise wie das Blut wurde morphinhaltiger Mageninhalt analysiert. Das Ergebnis war bei 40 % der Proben positiv, d. h. auch unter diesen sehr ungünstigen Bedingungen war das Morphin auf biologischem Wege nachweisbar.

Endlich gelang es sogar bei Gelegenheit von Versuchen mit Opiumrauchen aus dem Blute der Versuchstiere eine Reaktion zu erhalten: Kaninchen wurden, während sie Opiumrauch einatmeten, in Abständen von 10 Minuten Blutproben entnommen. Das hieraus erhaltene Serum ergab in der Mehrzahl der Fälle positive Reaktion, und zwar um so stärker, je länger das Einatmen bei Entnahme der betreffenden Probe gedauert hatte.

Das Resultat dieser Versuche in forensischer Hinsicht dürfte darin zu erblicken sein, daß prinzipiell mit der biologischen Methode im Serum und in den Organen Morphin nachzuweisen ist. Ihr Vorzug besteht in dem Wegfall umständlicher Reinigungsverfahren. Zur endgültigen Entscheidung der Frage aber, ob die biologische Methode auch in solchen Fällen noch positiv ist, in denen die chemische völlig versagt, möchte ich bei der Unsicherheit des Tierexperiments überhaupt meine Resultate noch nicht verwerten.

Überblickt man das Gesamtergebnis der Untersuchung, so ist es kurz zusammengefaßt folgendes:

---

[1]) Cloëtta 15 bis 39 %, Totze (Chem.-Zeitg. 1903, Nr. 101) 13 bis 24 %.

1. In reinen Morphinlösungen ist die Spezifizität der Reaktion hinreichend, denn differentialdiagnostisch kommt eigentlich nichts in Betracht, was nicht auf anderem Wege ausgeschlossen werden könnte. Die Reaktion besitzt aber nicht die quantitative Genauigkeit einer chemischen Reaktion mit reiner Substanz.

2. Forensisch hat die Reaktion allein nicht die genügende Beweiskraft; doch kann sie als orientierende Vorprobe oder zur Sicherung einer chemischen Wahrscheinlichkeit Verwendung finden. Ihre praktische Verwertbarkeit liegt hauptsächlich darin, daß das übliche Stas-Dragendorffsche Verfahren der Isolierung nur bis zum ersten Stadium der Abtrennung der gröbsten Verunreinigungen durchgeführt zu werden braucht, während die später mit besonderem Materialverluste verbundenen Ausschüttelungen entbehrlich sind.

3. Die Reaktion besitzt hinreichende Genauigkeit, um einige interessante Feststellungen zur Pharmakologie und Pharmakognosie des Morphins zu ermöglichen.

Literatur.

1. Cloëtta, Über das Verhalten des Morphins im Organismus und die Ursachen der Angewöhnung an dasselbe. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 50, 453.

2. Dragendorff, Die Heilpflanzen. Stuttgart 1898.

3. Faust, Über die Ursachen der Gewöhnung an Morphin. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 44, 217.

4. H. Fühner, Nachweis und Bestimmung von Giften auf biologischem Wege. Berlin-Wien 1911.

5. Kobert, Lehrbuch der Intoxikationen. Stuttgart 1906.

6. Landsberg, Untersuchungen über das Schicksal des Morphins im lebenden Organismus. Arch. f. d. ges. Physiol. 23, 413, 1880.

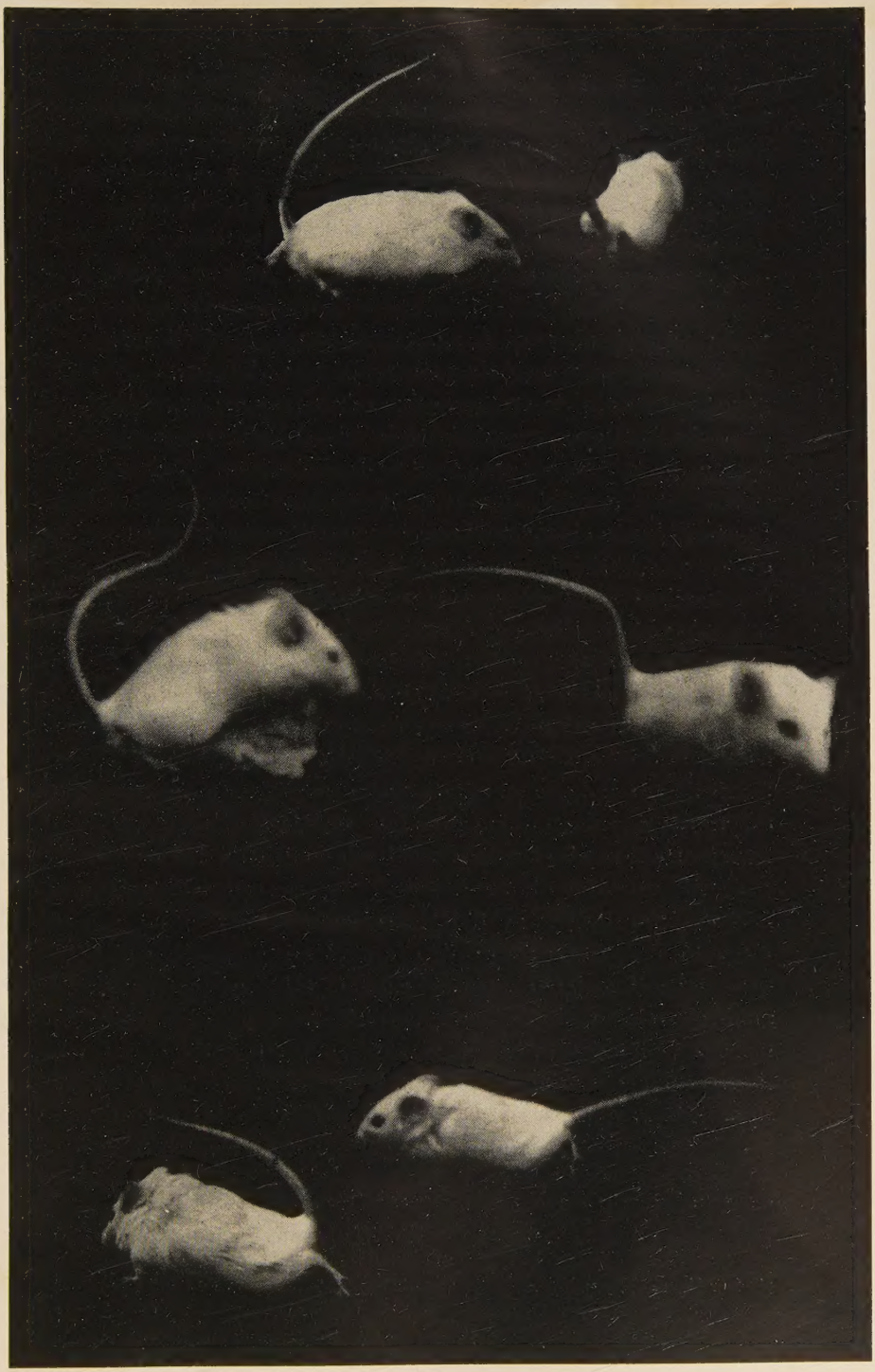
7. Marquis, Über den Verbleib des Morphins im tierischen Organismus. Diss. Dorpat 1896.

8. Rübsamen, Experimentelle Untersuchung über die Gewöhnung an Morphin. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 59, 227.

9. Tauber, Über das Schicksal des Morphins im tierischen Organismus. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 27, 336.

10. Thoms, Arbeiten a. d. pharmazeut. Institut d. Univ. Berlin, 1908.

11. Totze, Einige Versuche über den Verbleib des Morphins im tierischen Organismus. Chem.-Zeitg. 1903, Nr. 101.



Lebenslauf.

Ich bin geboren am 10. April 1886 zu Metz, besuchte das Maximiliansgymnasium in München, das ich im Jahre 1905 absolvierte. Nach Ableistung meines einjährig-freiwilligen Militärdienstes studierte ich drei Semester an der Universität Freiburg i. B., hierauf zwei Semester in München und bestand hier 1908 die ärztliche Vorprüfung. Dem klinischen Studium widmete ich zwei Semester in München und drei in Freiburg i. B., wo ich Ostern 1911 die ärztliche Prüfung ablegte. Die vorliegenden Untersuchungen habe ich als Medizinalpraktikant am pharmakologischen Institut zu Freiburg i. B. ausgeführt.